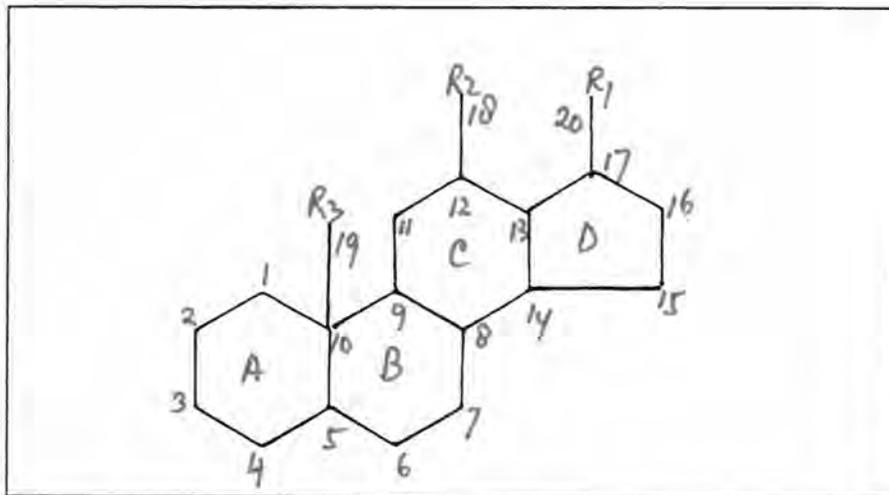


BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Steroid Pada Tanaman

Steroid merupakan kelompok senyawa yang mempunyai kerangka dasar C₁₇, merupakan fusi dari 3 siklopentano perhidropentantren, seperti disajikan pada Gambar 2.1. Senyawa steroid mempunyai struktur kimia yang bervariasi dan bahan tersebut memegang peran penting dalam kehidupan, beberapa contoh senyawa steroid antara lain kolesterol, asam empedu, vitamin D, hormon seks dan kortikoid, aglikon kardiak dan antibiotik.



Gambar 1. Rumus bangun kerangka dasar steroid

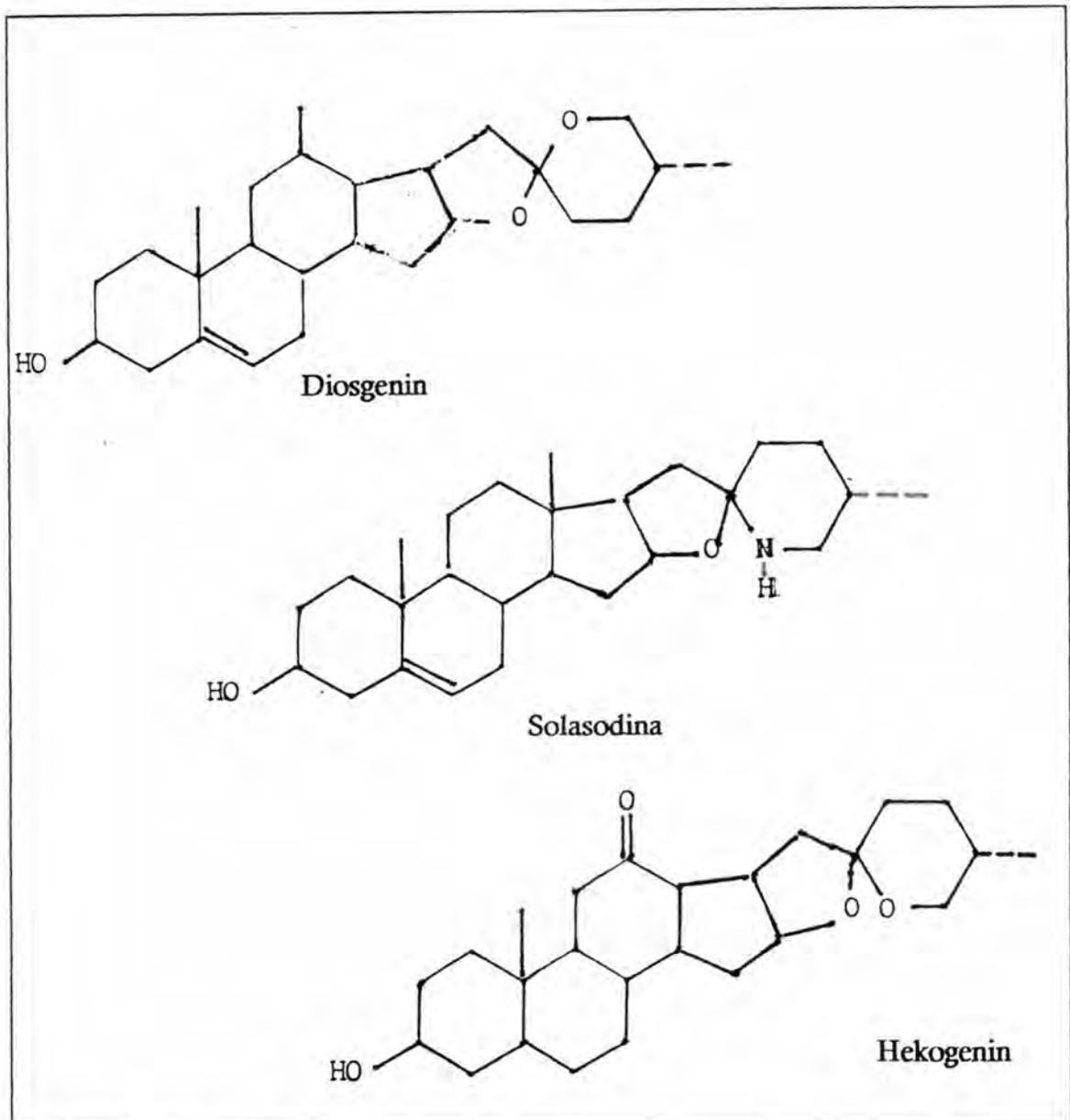
Bila ditinjau dari sifat fisiologisnya, menurut Achmad (1986) senyawa steroid dapat dibedakan atas beberapa kelompok yaitu sterol (ergosterol, stigmasterol, kampesterol dan kolesterol), asam-asam empedu (asam kolat dan asam litokolat), hormon seks (oesteron dan progesteron), adrenokortikoid (kortison dan aldosteron), aglikon kardiak (digitoksigenin dan strofantidin),

sapogenin (diosgenin dan sarsapogenin). Dilihat dari asalnya, maka steroid yang dihasilkan oleh tumbuhan (fitosteroid) terdiri dari steroid alkohol (sterol), sapogenin steroid dan steroid alkaloid. Yang termasuk kedalam fitosterol antara lain sitosterol, stigmasterol, kampesterol dan brassicasterol (deMan, 1976). Sedangkan yang termasuk pada sapogenin steroid (steroid yang mengandung glikosida) adalah diosgenin dan sarsapogenin), dan yang termasuk steroid alkaloid adalah solasodina dan tomatidina (Achmad, 1986).

Diantara jenis-jenis steroid dari tanaman (fitosteroid) yang paling banyak digunakan sebagai bahan dasar sintesis kontrasepsi adalah solasodina dan diosgenin. Hal tersebut disebabkan molekulnya memiliki kerangka yang mirip dengan senyawa- senyawa hormon steroid, terutama cincin A, B, C dan D (Muljati, 1988). Lebih lanjut Tarigan (1980) menyatakan bahwa solasodina dan diosgenin hanya berbeda pada atom oksigen yang diganti dengan nitrogen, oleh sebab itu solasodina termasuk dalam steroid alkaloid. Rumus bangun beberapa senyawa fitosteroid seperti disajikan pada Gambar 2.2.

Diosgenin merupakan fitosteroid yang mempunyai rumus molekul $C_{27}H_{42}O_3$ (Tedder *et al.*, 1972), senyawa tersebut mempunyai berat molekul 414,61, titik cair 204-207 °C, larut dalam pelarut organik serta asam asetat. Steroid diosgenin termasuk dalam senyawa sapogenin steroid atau diosgenin merupakan aglikon dari saponin. Saponin merupakan glikosida nabati yang bebas dari basa nitrogen, sehingga tidak termasuk dalam kelompok alkaloid steroid.

Selama ini sebagian besar senyawa diosgenin diperoleh dari tanaman genus *Dioscorea* dan genus *Costus*. Senyawa tersebut sejak lama telah banyak dimanfaatkan sebagai racun ikan, obat cuci/deterjen, obat sipilis, diuretika dan ekspektoransia (Robinson, 1964 dan Lubis, 1980).



Sumber : Tarigan (1980)

Gambar 2.2. Rumus bangun Diosgenin, Solasodina dan Hekogenin

Solasodina mempunyai struktur yang hampir sama dengan diosgenin, hanya dibedakan pada atom oksigennya diganti dengan nitrogen, sehingga senyawa tersebut termasuk alkaloid steroid (Tarigan, 1980). Di alam solasodina tidak terdapat dalam bentuk bebas, melainkan terikat senyawa-

senyawa glikosida, jika senyawa tersebut dihidrolisis dengan asam encer akan terurai menjadi solasodina sebagai aglikonnya. Sumber solasodina di alam adalah tanaman *Solanum khasianum* Clarke.

Hekogenin mempunyai struktur molekul yang hampir sama dengan diosgenin, perbedaannya adalah pada senyawa hekogenin tidak mempunyai ikatan rangkap pada atom C₅ dan terdapat gugus keton pada C₁₂. Menurut Trease dan Evans (1983), senyawa hekogenin banyak terdapat pada tumbuhan genus *Agave* dan *Hechtia*.

2.2. Biosintesis Steroid Pada Tanaman

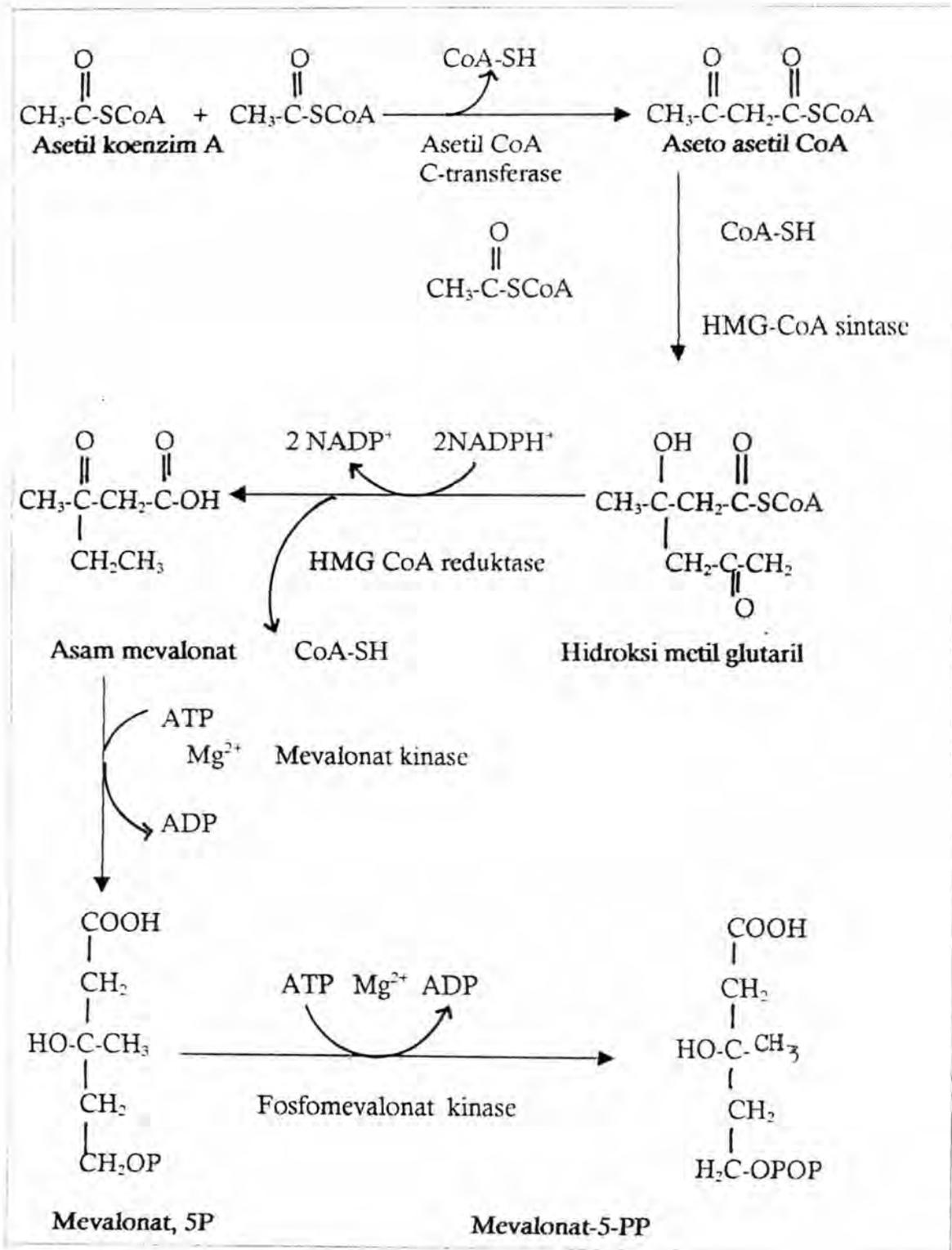
Steroid merupakan senyawa yang termasuk dalam produk metabolit sekunder. Menurut Trease dan Evans (1985), pada dasarnya lintasan biosintesis metabolit sekunder hampir sama antara yang terjadi pada binatang maupun tumbuhan, hanya jumlahnya yang berbeda. Selanjutnya Prave *et al.* (1987) menambahkan bahwa metabolit sekunder merupakan penyimpangan dari metabolit primer, merupakan produk antara, produk yang berfungsi dalam proses detoksifikasi, produk akumulasi dari proses penghambatan pertumbuhan dan lain-lain. Hal tersebut ditunjang oleh Shetty dan Curtis (1995) yang menyatakan bahwa metabolit sekunder tidak ada hubungannya dengan metabolit primer dan juga tidak berperan secara langsung dengan proses fisiologis tanaman. Fungsi metabolit sekunder tidak jelas, tetapi sebagian berfungsi dalam : mengatur pertumbuhan dan perkembangan, melindungi tanaman dari serangan jamur dan bakteri, membuat tanaman tak disukai oleh hewan, bereaksi sebagai insektisida dan membantu proses polinasi atau distribusi biji.

Senyawa golongan sterol disintesis dan disimpan dalam organ sel retikulum endoplasma, kompleks golgi, membran plasma dan tonoplasma. Senyawa tersebut sebagian besar disimpan dalam bentuk steril ester dan sterol bebas. Lebih lanjut menurut Burden, Coke dan Carter (1989) pada tanaman terdapat korelasi antara proses penghambatan pertumbuhan dengan akumulasi metabolit sekunder.

Achmad (1986), Fessenden dan Fessenden (1992), menyatakan bahwa senyawa steroid berasal dari triterpen sikloartenol, setelah mengalami serentetan perubahan tertentu. Pada tahap awalnya sama untuk semua jenis steroid, yaitu perubahan asam asetat menjadi mevalonat, pada tahap tersebut senyawa asetil CoA dengan adanya enzim asetil CoA C- transferase, HMG-CoA sintase dan HMG-CoA reduktase akan diubah menjadi asam mevalonat (Curry, 1987). Reaksi pembentukan asam mevalonat tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.3.

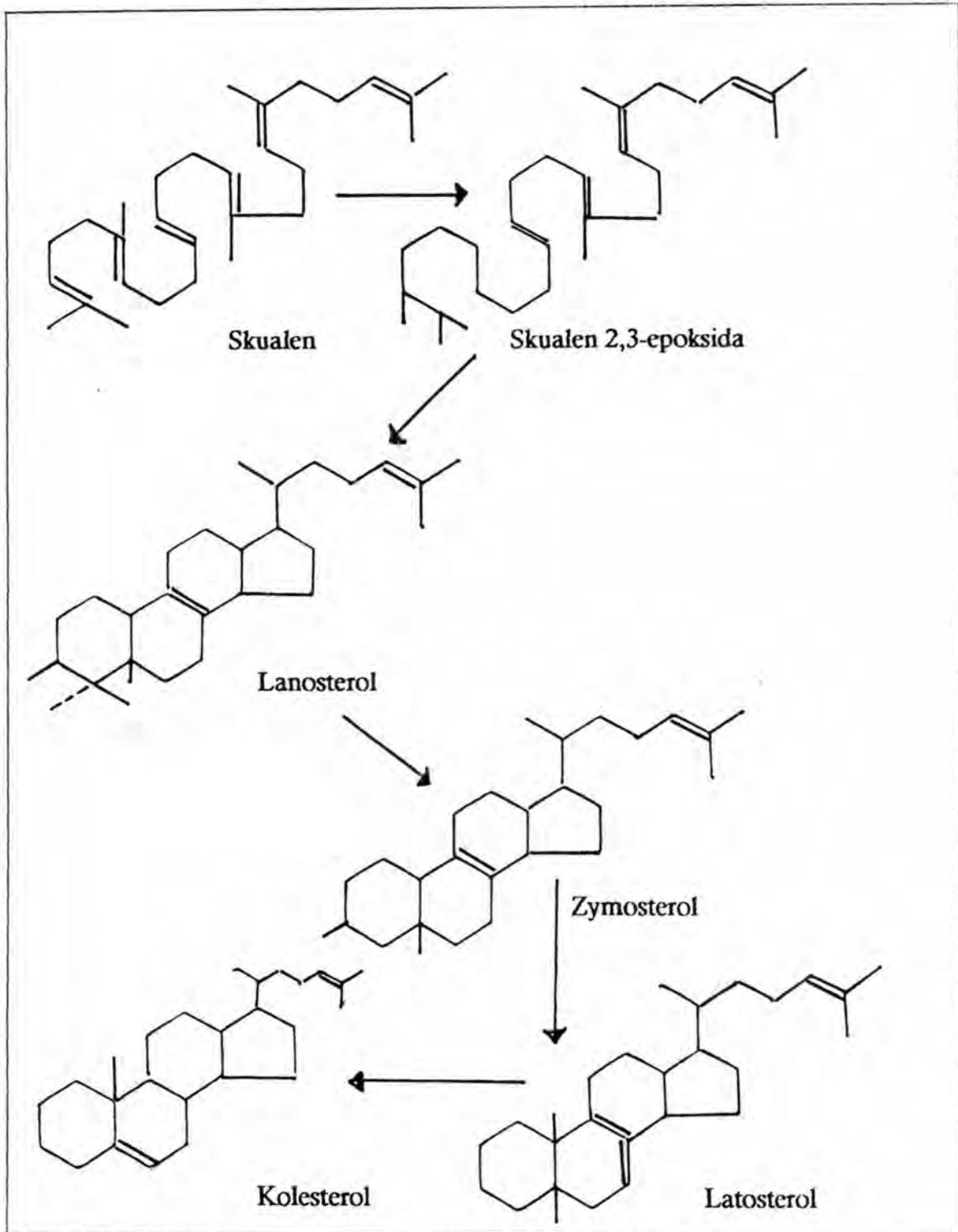
Pada tahap selanjutnya asam mevalonat akan diubah menjadi isopentenil pirofosfat (IPP), dimetilalil pirofosfat (DMAPP) dan farnesil pirofosfat (FPP) (Achmad, 1986). Senyawa farnesil pirofosfat akan mengalami perubahan menjadi skualen dan sikloartenol. Siklisasi senyawa tersebut melibatkan aktivitas enzim Sitokrom P-450 yang berfungsi sebagai enzim oksidase (Croteau *et al.*, 1991). Menurut Silva dan Williams (1991), enzim oksidase dalam aktivitasnya memerlukan tembaga. Reaksi tahapan perubahan mevalonat menjadi skualen disajikan pada Gambar 2.4.





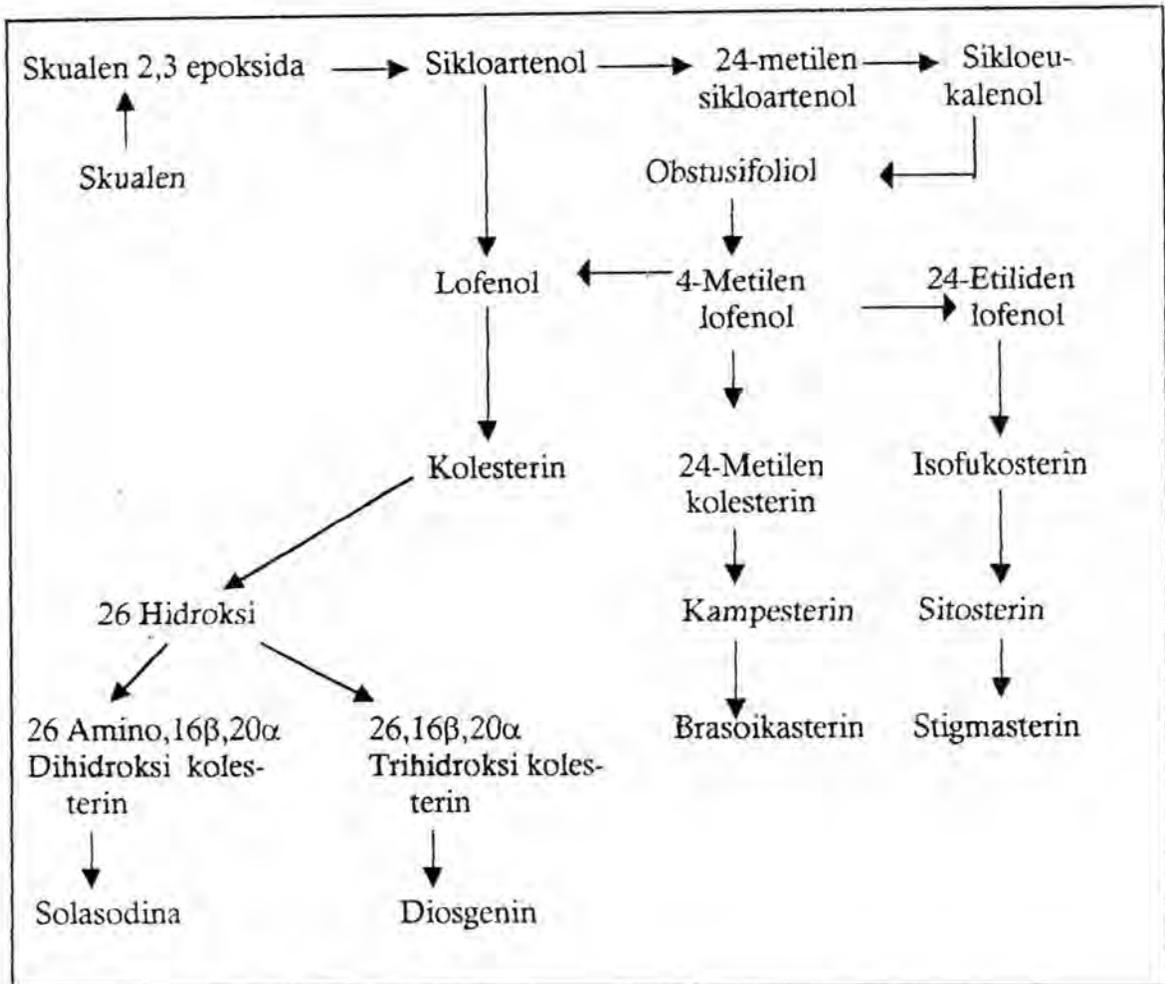
Sumber : Curry (1987)

Gambar 2.3. Reaksi pembentukan asam Mevalonat



Sumber : Trease dan Evans (1985).

Gambar 2.5. Siklisasi Skualen dan pembentukan Kolesterol



Sumber : Emma (1989)

Gambar 2.6. Perubahan Skualen menjadi Solasodina dan Diosgenin

Senyawa sikloartenol selanjutnya akan berubah menjadi kolesterol dan pada tanaman akan berubah menjadi diosgenin dan lain-lain yang mengandung gugus gula (Trease dan Evans, 1985) seperti pada Gambar 2.5 dan Gambar 2.6. Menurut Paczkowski *et al.* (1990) penggabungan antara kolesterol dengan gugus gula tersebut melibatkan aktivitas enzim UDPG-glukasil transferase.

2.3. Tanaman Penghasil Steroid

Menurut Giner dan Djerasi (1991) sumber-sumber sterol pada tanaman antara lain meliputi famili *Compositae*, *Cucurbitaceae*, *Leguminoceae* dan *Apocynaceae*. Dalam hal pencarian sumber bahan kontrasepsi, Tarigan (1980) telah melakukan skrining sekitar 118 spesies tumbuhan dari 16 genus yang mengandung senyawa steroid. Dari jumlah tersebut yang memiliki kandungan steroid sebanyak 9 genus, sedangkan yang kandungannya tinggi atau potensial untuk dikembangkan hanya 5 genus yaitu *Agave*, *Costus*, *Dioscorea*, *Solanum* dan *Yucca*. Kelima genus tersebut termasuk dalam divisi Spermatofita dan sub-divisi Angiospermae. Dari kelima genus tanaman penghasil steroid tersebut yang sudah banyak diteliti kemungkinan pengembangan di bidang pertanian adalah *Costus*, *Dioscorea* dan *Solanum*, sedangkan genus *Agave* dan *Yucca* belum banyak diteliti.

Menurut Trease dan Evans (1985) jenis steroid yang terdapat pada tumbuhan genus *Yucca* yang paling banyak adalah steroid sarsapogenin. Pada genus *Agave* tersebut ada 9 spesies yang mengandung steroid, namun demikian yang potensial hanya 2 spesies yaitu *A. cantala* dan *A. sisalana*, Perrina karena kedua spesies tersebut bagian tanaman yang tinggi kandungan steroidnya adalah daun (Tarigan, 1980).

Genus-genus *Costus*, *Dioscorea* dan *Solanum* merupakan tanaman yang kini telah mendapat perhatian di bidang pertanian. Genus *Dioscorea* mempunyai kelebihan kadar steroidnya tinggi, pada tanaman *Dioscorea hispida* Dennst bagian ubinya mengandung diosgenin 4-6 persen (Sudiarto, 1984), akan tetapi mempunyai kelemahan tanamannya bersifat tahunan dan belum banyak dibudidayakan oleh masyarakat. Genus *Solanum* mempunyai kelebihan tanaman bersifat musiman, akan tetapi memerlukan persyaratan

tumbuh yang rumit dan kandungan solasodina pada *Solanum khasianum* hanya mencapai 2,5- 3,0 persen.

Genus *Costus* kadar steroid diosgenin pada rimpangnya hanya mencapai 1,5-2,1 persen, akan tetapi mempunyai banyak kelebihan diantaranya bagian biji juga mengandung diosgenin sekitar 2,7-3,4 persen (Lubis dan Sastrapradja, 1984), daerah tumbuh luas 1-1.200 m dpl., dan tanaman banyak tumbuh liar pada berbagai kondisi tanah sehingga memungkinkan untuk dibudidayakan secara masal. Dari 14 spesies *Costus* yang diteliti hanya ada 3 spesies yang mengandung steroid diosgenin, spesies-spesies tersebut adalah *C. rhumpianus* Val., *C. speciosus* (Koen.) Smith dan *C. villosissimus* Jacq. (Tarigan, 1980).

Diantara 3 spesies tersebut yang hingga kini yang mendapat perhatian serius untuk diteliti dan dibudidayakan adalah *C. speciosus*. Sistematika tanaman *Costus speciosus* sebagai berikut:

- Divisi : Spermatophyta
- Kelas : Monocotyledoneae
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae
- Genus : *Costus*
- Spesies : *Costus speciosus*

Dalam bahasa daerah *Costus speciosus* dikenal dengan nama Pacing atau tawar (Jawa) maupun tetawar (Sunda). Tanaman *Costus speciosus* merupakan tumbuhan tahunan yang bercabang pada tengah bagian atas batangnya. Batang sebesar ibu jari dan berserat. Tinggi tanaman 0,5-4 meter. Daun pada umumnya berbentuk lembing dan melebar di bagian tengah, pada permukaan atas daun di sekitar jari tulang daun kadang-kadang dijumpai bulu-

bulu halus. Panjang daun sekitar 12-34 cm, lebar mencapai 4-10,5 cm dan tangkai daun pendek agak berbulu (Van Steenis, 1978). Selanjutnya dinyatakan bahwa bunga bersifat majemuk yang terdiri atas serangkaian bunga. Daun pelindung bunga primer bulat telur, lunak atau keras dan berduri. Warna bunga putih dan pada umumnya berbulu halus. Daun pelindung bunga primer bulat telur, lunak atau keras dan berduri. Daun pelindung bunga sekunder bercelah, runcing dan berwarna merah. Panjang kelopak bunga 2-2,35 cm, kepala sari 8 mm dan tangkai putik sekitar 2,75 cm.

Buahnya sedikit sampai banyak, dengan panjang hampir sama dengan daun pelindungnya. Letaknya terbuka, berbentuk corong, berwarna merah, ukurannya 1-2,5 cm. Kulit buah tebal, biji berukuran 3mm (Van Steenis, 1978). Tanaman *Costus speciosus* banyak tumbuh pada ketinggian 1-1200 m dari permukaan air laut. Tumbuh liar pada tempat yang lembab, bahkan pada tempat yang berkapur.

Bagian tanaman yang banyak mengandung diosgenin adalah bijinya. Kandungan diosgenin pada biji *Costus speciosus* berkisar antara 2,7-3,4 persen (bk), yang lebih tinggi sekitar 1,25 persen bila dibandingkan dengan diosgenin pada umbinya (Lubis dan Sastrapradja, 1985).

2.4. Faktor-faktor Berpengaruh Dalam Pembentukan Metabolit Sekunder Pada Tanaman

Menurut Trease dan Evans (1983), faktor-faktor yang mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada tanaman antara lain iklim, hara, teknik budidaya dan penanganan pasca panen. Iklim terdiri dari suhu, curah hujan, lama penyinaran, intensitas cahaya dan ketinggian tempat, sedangkan teknik

budidaya terdiri dari pengaturan nutrisi pada tanah dan cara perbanyakan tanaman. Penanganan pascapanen meliputi proses pengeringan dan penyimpanan yang lebih ditujukan untuk menjaga keutuhan senyawa metabolit sekunder.

2.4.1. Lingkungan

Pengaruh suhu dan lama penyinaran sangat besar terhadap aktivitas metabolisme tanaman. Menurut Alberdi dan Corcuera (1991) suhu yang rendah akan menurunkan aktivitas metabolisme dan fungsi fisiologis tanaman. Suhu yang terlalu ekstrem kadang-kadang menyebabkan produktivitas tanaman terhambat, bahkan dapat menyebabkan kerusakan jaringan hidup (Fircks dan Verwijst, 1993). Di samping itu juga dapat menyebabkan kerusakan-kerusakan permanen, yang pada akhirnya menyebabkan kematian.

Hasil penelitian Midmore dan Prance (1992) membuktikan bahwa pada suhu yang tinggi dan iradiasi cahaya rendah akan menyebabkan rendahnya NAR (*net assimilation rate*) dan RGR (*relative growth rate*) pada tanaman *Solanum*. Ditunjang oleh Burke dan Oliver (1993) menyatakan bahwa suhu untuk proses metabolisme tanaman *Cucumis sativus* L. sebesar 23,5-39 ° C, dan suhu optimalnya sebesar 30-35 ° C. Untuk tanaman *Arabidopsis thaliana*, terjadinya perubahan suhu dingin ternyata tidak mempengaruhi komposisi sterol (Patterson, Hugly dan Harrison, 1993). Peran cahaya terhadap pembentukan sterol telah diteliti oleh Huang dan Grundwald (1989), mereka menyatakan bahwa penggabungan mevalonat ke dalam sterol akan lebih cepat dengan adanya cahaya, sehingga terjadi demetilasi 4,4-dimetil sterol. Kok (1956); Critckley dan Smillie (1981); Langenheim *et al.* (1984) Oberbauer dan Strain (1985) dalam Kamaludin dan Grace (1992) menambahkan bahwa selain

efek dari suhu, kontak tanaman pada intensitas cahaya yang tinggi juga akan mengakibatkan fotoinhibisi dalam proses fotosintesis.

Pengaruh jumlah air tanah terhadap biosintesis metabolit sekunder pada tanaman telah diteliti oleh Stefanov *et al.* (1992), hasil percobaan menunjukkan bahwa pada defisit air sebanyak 50 persen akan terjadi perubahan komposisi sterol pada tanaman *Herbelea rhodopensis*, sedangkan pada defisit air 87 persen komposisinya sama dengan tanaman segar tanpa defisit air.

Pengaruh ketinggian tempat tanam terhadap pertumbuhan 3 varietas *Solanum khasianum* telah diteliti oleh Januwati (1985). Mereka menyimpulkan bahwa pada ketinggian 1500 m dpl., laju pertumbuhan (tinggi tanaman, diameter batang dan jumlah cabang primer) ketiga jenis yaitu BD (banyak duri), KD (kurang duri) dan DB (duri bengkok) adalah sama, akan tetapi jenis KD cenderung menghasilkan buah lebih banyak. Pada ketinggian tersebut jenis KD memberikan hasil berat buah, jumlah buah dan diameter buah lebih tinggi dibandingkan jenis BD dan DB. Pada ketinggian 1200 m dpl. hanya jumlah buah jenis KD yang lebih tinggi dibandingkan lainnya. Pada ketinggian 115 m dpl., kelima sifat yaitu tinggi tanaman, jumlah cabang primer, jumlah buah, berat buah dan diameter buah besarnya sama antara ketiga jenis/klon di atas.

2.4.2. Nutrisi pada Tanah

Ada 16 jenis unsur nutrisi yang diperlukan bagi tanaman, dari jumlah tersebut 13 diantaranya diperoleh tanaman dari tanah, hanya C, H dan O dapat diambil dari luar tanah (Gardner, Pearce dan Mitchell, 1991). Lebih lanjut dinyatakan bahwa karbon, air dan oksigen secara total mencapai 95 persen,

sisanya terdiri dari elemen makro dan elemen mikro. Sembilan elemen yang termasuk unsur makro (S, P, Mg, K, Ca, N, C, H dan O), nutrisi mikro esensial (Mo, Cu, Mn, Fe, B dan Cl) dan nutrisi mikro non-esensial (Li, Be, Ni, Al, Cd, Pb, Hg). Rincian kebutuhan hara bagi tanaman disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Jenis-jenis elemen yang diserap dari tanah

Jenis Unsur	Diserap dalam bentuk senyawa	Jumlah diperlukan dalam nutrisi (ppm)
Nitrogen	$\text{NO}_3^-; \text{NH}_4^+$	100-200
Fosfor	$\text{H}_2\text{PO}_4^-; \text{HPO}_4^{2-}$	63
Belerang	SO_4^{2-}	32
Kalium	K^+	200
Kalsium	Ca^{2+}	120
Magnesium	Mg^{2+}	24
Besi	$\text{Fe}^{2+}; \text{Fe}^{3+}$	5,6
Mangan	Mn^{2+}	0,6
Boron	$\text{BO}_3^{2-}; \text{BO}_3^{3-}$	-
Tembaga	$\text{Cu}^{1+}; \text{Cu}^{2+}$	0,02
Seng	Zn^{2+}	0,07
Molibdenium	MoO_4^{2-}	0,01
Klor	Cl^-	-

Sumber : Gardner *et al.* (1991).

Variasi kuantitas nutrisi yang diperlukan oleh tanaman sangat dipengaruhi oleh jenis tanaman yang dibudidayakan, tingkat/jumlah hasil yang diinginkan dan jenis unsur nutrisi yang diperlukan. Diperjelas bahwa kandungan nutrisi dalam jaringan tumbuhan yang lebih dikenal dengan istilah status nutrisi dalam tanaman dapat dikelompokkan menjadi 4 tingkatan yaitu defisien, peralihan, cukup dan beracun (Gardner *et al.*, 1991). Contoh kebutuhan beberapa unsur-unsur nutrisi pada tanaman seperti disajikan pada Tabel 2.2 .



Kebutuhan akan nutrisi mikro jauh lebih kecil dibandingkan dengan nutrisi makro, dan semua jenis hara mikro tersebut dalam jumlah tertentu justru bersifat meracuni tumbuhan (Gardner *et al.*, 1991) oleh sebab itu penggunaan pupuk mikro harus dilakukan dengan hati-hati. Hal tersebut berbalikan dengan konsep produksi metabolit sekunder pada tanaman, tingginya logam berat sebelum pada batas meracuni justru memacu pembentukan metabolit sekunder (Holden, Holden dan Yeoman, 1988).

Tabel 2.2. Standar klasifikasi status nutrisi Jeruk (*Citrus sinensis*) umur 4-7 bulan

Jenis unsur	Defisien bila < dari	Kisaran rendah	Kisaran optimum	Kisaran tinggi	Menimbulkan ekkses bila >
Nitrogen (%)	2,20	2,20-2,40	2,50-2,70	2,80-3,00	3,00
Fosfor (%)	0,09	0,09-0,11	0,12-0,16	0,17-0,29	0,30
Belerang (%)	0,14	0,14-0,19	0,20-0,39	0,40-0,60	0,60
Kalium (%)	0,70	0,70-1,10	1,20-1,70	1,80-2,30	2,40
Kalsium (%)	1,50	1,50-2,90	3,00-4,50	4,60-6,00	7,00
Magnesium (%)	0,20	0,20-0,29	0,30-0,49	0,50-0,70	0,80
Besi (ppm)	35	35-49	50-120	130-200	250
Mangan (ppm)	18	18-24	25-49	50-500	1.000
Boron (ppm)	20	2-35	36-100	101-200	260
Tembaga (ppm)	3,60	3,70-4,90	5-12	13-19	20
Seng (ppm)	10	18,24	25-49	50-200	200
Molibdenium (ppm)	0,05	0,06-0,09	0,10-1	2-50	100
Klor (ppm)	-	-	<0,16	0,30-0,50	0,70
Lithium (ppm)	-	-	<1	1-5	12

Sumber : Smith (1966) dalam Bidwell (1979).

a. Kalsium (Ca)

Di dalam tanaman kalsium mempunyai beberapa fungsi antara lain : membentuk kalsium pektat sebagai komponen dinding sel, berperan pada pembentukan asam indol asetat, mempengaruhi pertumbuhan yang non-spesifik, struktur membran dan perubahan ion, sebagai pelindung transportasi

ion dan proses fisiologis, mempengaruhi reduktase nitrat, berperan dalam nodulasi dan fiksasi nitrogen (Bonner dan Varner, 1976).

Kalsium diperlukan oleh beberapa enzim antara lain amilase, ATP-ase dan fosfolipase (Bonner dan Varner, 1976). Hal tersebut juga didukung oleh Silva dan Williams (1991) yang menyatakan bahwa kalsium diperlukan dalam enzim fosfolipase A₂, termolisin dan sakarase. Hasil penelitian Noeraini (1992) menunjukkan bahwa peningkatan ion Ca²⁺ sampai pada kadar 880 µg/l pada kalus *Agave amaniensis* Trel-Nowell menghasilkan hekogenin sebesar 56,45 ± 1,33 µg/g, akan tetapi Indrayanto *et al.* (1996) menyatakan bahwa ion Ca²⁺ tidak berpengaruh terhadap kadar hekogenin *Agave amaniensis*.

b. Magnesium (Mg)

Fungsi logam magnesium dalam tanaman sebenarnya hampir sama dengan kalsium, yaitu membantu proses pertumbuhan. Beberapa enzim yang memerlukan magnesium antara lain adenilat siklase, ATP-ase, alkalin fosfatase, enolase, isositrat liase, metil aspartase, ribulosa bifosfatase karboksilase dan secara umum enzim kinase (Silva dan Williams, 1991). Lokasi enzim-enzim tersebut kesemuanya terdapat pada sitoplasma. Defisiensi unsur magnesium akan mengakibatkan sintesis klorofil terhambat dan tanaman mengalami klorosis (Treshow, 1961).

Hasil penelitian Noeraini (1992) menunjukkan bahwa kenaikan ion magnesium justru menurunkan kandungan hekogenin *Agave amaniensis*, sedangkan menurut Indrayanto *et al.* (1996) ion Mg²⁺ tidak berpengaruh dalam pembentukan hekogenin tanaman *Agave amaniensis*.

c. Nitrogen (N)

Nitrogen dalam tanaman mempunyai peran penting dalam hal sebagai penyusun asam amino, amida, nukleotida, dan nukleoprotein, serta esensial dalam proses pembelahan sel untuk pertumbuhan (Gardner *et al.*, 1991). Defisiensi terhadap nitrogen akan mengurangi kualitas dan ukuran buah, dan menyebabkan kematangan lebih cepat (Treshow, 1961).

Peran nitrogen belum jelas dalam pembentukan steroid, hasil penelitian Nuliyantini (1989) menunjukkan bahwa kenaikan nitrogen dalam bentuk kalsium nitrat dan amonium hidroksida sampai 2 kali tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan kalus *Solanum indicum* L. Sedangkan pada tanaman *Dioscorea alata* L., pemberian nitrogen dan kalium dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dan produksi umbi secara nyata (Supandji, 1984).

d. Fosfor (P)

Fosfor merupakan komponen struktural dari sejumlah senyawa penting, molekul pentransfer energi ADP dan ATP (adenosin di/tri fosfat), NAD, NADH dan senyawa sistem informasi genetik DNA dan RNA. Selain fosfor juga merupakan bahan penyusun fosfolipid seperti lesitin dan kolin yang memegang peran penting dalam hal integritas membran (Gardner *et al.*, 1991). Pengaruh fosfor pada tanaman berhubungan dengan pertumbuhan tanaman, defisit fosfor akan menyebabkan turunnya biomassa dan hasil pada tanaman kedelai. Pada sistem kultur jaringan, Sunarlin (1989) menyatakan bahwa H_3PO_4 berpengaruh pada pertumbuhan kalus *Agave amaniensis* dan

kandungan steroidnya, akan tetapi tidak berpengaruh pada macam hecogeninnya (Worokarti, 1991).

e. Besi (Fe)

Beberapa macam peran unsur besi dalam aktivitas kehidupan tumbuhan, antara lain sebagai komponen struktur molekul porpirin, komponen struktur non-heme (misal feridoksin) dan sistem enzim. Yang termasuk dalam porpirin tersebut antara lain sitokrom, heme, hematin, ferikrom, leghemoglobin. Selain itu besi terlibat dalam reaksi oksidasi dan reduksi pada proses respirasi dan fotosintesis.

Beberapa jenis enzim pada tanaman yang memerlukan besi antara lain sitokrom oksidase, katalase, peroksidase, akonitase, nitrogenase, peptidilkolin hidrolase dan sintesis kloropil yang meliputi gama-aminolevulenat dehidrase, gama-aminolevulenat sintetase dan ferokinase. Beberapa enzim yang memerlukan besi serta fungsinya seperti pada Tabel 2.3.

Greene *et al.* (1992), menyatakan bahwa rendahnya kandungan besi pada tanaman akan menyebabkan berkurangnya kadar kloropil pada daun, meskipun lebih banyak cahaya yang terabsorpsi namun terbatasnya besi akan menurunkan efisiensi energi eksitasi dalam fotosistem. Diperkuat oleh Treshow (1961) menyatakan bahwa gejala tanaman yang kekurangan besi kadang-kadang disebabkan akibat terlalu tingginya pH tanah, atau tidak seimbang antara ketersediaan dan kebutuhan besi oleh tanaman di dalam tanah.

Tabel 2.3. Beberapa peran logam Besi dalam enzim

Enzim/protein	Lokasi	Fungsi
Haemoglobin (Fe)	Sitoplasma	Tranfer oksigen
Transferin (Fe& Mg)	Plasma (luar sel)	Tranfer Fe & Mn
Feritin (Fe)	Sitoplasma	Penyimpanan Fe
Rubredoksin, Feredoksin (Fe)	Sitoplasma (prokariota)& membran	Transfer elektron
Hidroksilase (Fe) Peroksidase (Fe)	Sitplasma & membran	Penggunaan O
Fostfatase asam (Fe dan Mn)	Gelembung&luar sel	Hidrolisis gugus fosfat
Superoksida dismutase	Gelembung & luar sel mitokondria (pro-kariota)	Dismutasi Oksigen

Sumber : Silva dan Williams (1991).

Perilaku logam besi berhubungan dengan logam berat yang lain, Pich *et al.* (1994) menyatakan bahwa tingginya kadar besi tersedia pada tanah akan menyebabkan turunnya kandungan seng, mangan dan tembaga pada semua jaringan tanaman dari bermacam-macam jenis.

f. Mangan (Mn)

Unsur mangan dalam tumbuhan mempunyai peran dalam tranfer elektron pada fotosistem II, menjaga struktur membran kloroplas dan sebagai pembentuk anganin. Selain fungsi tersebut di atas mangan diperlukan oleh beberapa enzim, antara lain kromatin RNA polimerase, sintesis RNA primer oligoadenilat dan sintesis fosfatidil inositol, inaktivasi pelindungasam indol asetat dan enzim NAD malat pada tipe aspartat tanaman C₄ (Bonner dan Varner, 1972).

Hasil penelitian Gregory (1971); Terry dan Ulrich (1975) *dalam* Last dan Bean (1991), menunjukkan bahwa logam mangan mempunyai manfaat yang sangat penting dalam fotosintesis dan metabolisme nitrogen pada

jaringan tanaman. Disamping hal tersebut mangan juga berpengaruh pada proses lignifikasi tanaman *Pinus radiata*. Kekurangan logam mangan pada tanaman akan berakibat tanaman mengalami klorosis (Polle *et al.*, 1992) serta daya tahan tanaman menurun, penurunan tersebut disebabkan kandungan fenol dan lignin berkurang.

Tabel 2.4. Peran Mangan dalam beberapa enzim dan protein

Enzim/protein	Valensi	Sisi aktif	Fungsi dalam enzim
Galaktosil transferase	2	Mn spesifik <i>in vivo</i>	Transfer gugus galaktosil
Arginase	2	4 atom Mn per enzim	Hidrolisis arginin ke ornitin dan urea
Glikosil aminase	2	Gugus S-H dekat sisi aktif	Hidrolisis guanidino asetat ke glisin dan urea (mitokondria)
Fosfoenolpiruvat karboksikinase	2	Mengikat lewat O (bersaing dengan Fe)	Karboksilasi C-C (mitokondria)
Piruvat karboksilase	2	4 atom Mn per enzim	Sintesa C-C (mitokondria)
Prolin dipeptidase	2	Ligan O dan N	Hidrolisis atom C terminal prolin di peptida (ada dimana-mana)
Isopropil malat sintase	2	Gugus S-H dekat sisi aktif	Liase asam C-C Okso (mitokondria)
Mn-ribonukleotida reduktase	2	Ligan O dan N (kemungkinan)	Eliminasi reduksi 2 hidroksil dari ribonukleotida (prokariota)
Fosfatase asam	3	Residu penting histidin	Hidrolisis ortofosforit monoester (prokariota)
Mn-dioksigenase	2	<i>Low symmetry Mn²⁺ centre</i>	Katalisis pembelahan esterdiol ke katekol (prokariota)
Mn-katalase	3		Enzim redok, berperan pada H ₂ O ₂ (prokariota)
Mn-peroksidase lignase	2/3	His, His, Asp, His, H ₂ O	Degradasi lignin
Mn-superoksida	3	Donor N/O	Enzim redok, berperan pd superoksida radikal (mitokondria, kloropil)
Fotosistem II	2/4		Membebaskan dioksigen pada tanaman(kloropil)
Imidasol gliserol fosfat dehidrastase	2	Donor N/O	Sintesis histidin
Gluatamat sintetase	2		Sintesis glutamin (mitokondria)
Isositrat dehidrogenase	2		Siklus Krebs (mitokondria)

Sumber : Silva dan Williams (1991).

g. Tembaga (Cu)

Elemen tembaga dalam tanaman mempunyai beberapa fungsi antara lain dalam oksidasi terminal oleh sitokrom oksidase, sebagai media transfer elektron dalam fotosintesis pada plastosianin dan mempunyai efek tak langsung pada pembentukan tunas (Bonner dan Varner, 1972). Hal tersebut ditunjang oleh Sillanpaa (1972), yang menyatakan bahwa tembaga pegang peran penting dalam pertumbuhan, sebagai aktivator enzim atau bagian dari enzim pengoksidasi seperti mono dan polifenol oksidase (tirosinase), laktase dan asam askorbat oksidase yang berfungsi dalam respirasi. Selain itu tembaga juga penting dalam metabolisme protein dan berhubungan dengan pembentukan protein. Beberapa enzim yang memerlukan logam tembaga, lokasi dan fungsinya disajikan pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Peran Tembaga dalam beberapa enzim

Jenis enzim	Lokasi	Fungsi
Sitokrom oksidase	Permukaan mitokondria	Oksidasi alkohol primer menjadi aldehyd pada gula reduksi O ₂ ke H ₂ O ₂
Laktase, tirosinase	Ekstraseluler	Reduksi O ₂ ke H ₂ O
Askorbat oksidase	Ekstraseluler	Oksidasi fenol
Galaktosa oksidase	Ekstraseluler	Oksidasi as. Askorbat
Superoksida dismutase	Sitosol	Superoksida dismutasi (eukariota)

Sumber : Silva dan Williams (1991).

Selain perannya dalam membantu aktivitas enzimatis, kation Cu²⁺ juga dapat menghambat aktivitas enzim NADH oksidase pada plasma membran kedelai, daya penghambatan tersebut lebih besar bila dibandingkan kation logam lain seperti Cd²⁺, Ni²⁺, dan Zn²⁺ (Zancani *et al.* (1995). Diperjelas

bahwa mekanisme terjadinya keracunan tersebut melalui 2 kemungkinan, yaitu terjadi ikatan antara logam dengan sulfidril atau terjadi penggeseran logam esensial pada kompleks protein-logam. Ketahanan tanaman terhadap keracunan logam tersebut mungkin tergantung dari biokimia detoksifikasi, susunan/ikatan elemen racun/logam dalam sel dan batas terkecil kebutuhan logam oleh sel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa logam tembaga pada tanaman berpengaruh pada produksi biji, proses lignifikasi, senyawa etilena dan metabolisme nitrogen. Kenaikkan kandungan tembaga pada tanah menurut Ojeniyi dan Kayode (1993) akan meningkatkan produksi biji pada jagung, disamping hal tersebut kenaikan tembaga akan menstimulir pembentukan senyawa etilena (Matto, Mehta dan Baker, 1992).

Lebih lanjut dinyatakan bahwa defisiensi logam tembaga akan mengakibatkan proses lignifikasi pada tanaman *Pinus radiata* terganggu, sebaliknya kelebihan tembaga justru akan menyebabkan keracunan tanaman yang berakibat terhambatnya enzim glutamin sintetase dan alanin transaminase (Weber, Schat dan Maarel, 1991). Peranan logam tembaga pada produksi solasodina telah diteliti oleh Muljati (1988), hasil penelitian menunjukkan penambahan Cu^{2+} melalui pupuk daun pada tanaman *Solanum khasianum* dapat meningkatkan kadar solasodina buah yang dihasilkan. Akan tetapi terhadap metabolit primer yaitu bobot ubi pada tanaman kentang, kenaikan tembaga tidak menaikkan ubi yang dihasilkan (Susilowati, 1983).

h. Seng (Zn)

Peran elemen seng dalam tanaman menurut Bonner dan Varner (1992) meliputi metabolisme hormon tumbuh auksin (triptopan sintetase dan

metabolisma triptamin), enzim dehidrogenase (piridin nukleotida, alkohol, glukosa-6-fosfat dan triosa fosfat), enzim fosfodiester pada karbonat, memacu sintesis sitokrom C dan sebagai stabiliser fraksi ribosoma.

Seng sangat diperlukan oleh beberapa enzim seperti fosfolipase C, peptidase, dengan logam magnesium pada enzim fosfatase basa, kesemua enzim tersebut terletak pada luar sel (Silva dan Williams, 1991). Menurut Uritani (1975) fungsi seng dan tembaga berkaitan dengan aktivator metaloprotein dan faktor pertumbuhan dalam aksi enzim seperti pendaya guna, pemantap dan penghambat. Sebagai penggerak metaloenzim seng memegang peran dalam anhidrase karbonat, dehidrogenase alkohol dan laktat, ribonuklease, dan pembentukan zat tumbuh auksin.

Treshow (1961) menyatakan bahwa defisiensi seng biasanya terjadi pada tanah kapur yang hujannya kurang, atau pada tanah yang terlalu tinggi bahan organiknya atau nitrogennya. Hasil penelitian Susilowati (1983) menunjukkan bahwa peningkatan seng pada tanaman kentang ternyata tidak menaikkan hasil umbi kentang secara nyata.

i. Boron (B)

Boron dalam tanaman berperan pada translokasi gula, metabolisma senyawa fenol, metabolisma RNA dan berperan pada hormon GA₃ dan aktivitas enzim alfa amilase (Bonner dan Varner, 1972). Lebih lanjut Gardner *et al.* (1991) menyatakan bahwa kebutuhan antara boron dan natrium berhubungan erat, hal tersebut disebabkan boron juga diperlukan dalam pembentukan dinding sel dan untuk metabolisma senyawa pektat.

Hasil penelitian Muljati (1988) membuktikan bahwa penambahan konsentrasi boron pada tanaman *Solanum khasianum* ternyata tidak

meningkatkan kandungan solasodina. Pada tanaman kacang tanah, kandungan boron pada tanah yang paling optimal sebesar 3,42 mg/kg, di atas konsentrasi tersebut produktivitas akan menurun (Santosa, 1992).

i. Aluminium (Al)

Aluminium tergolong hara non esensial bagi tanaman, elemen tersebut dalam tanah kadarnya sangat tinggi terutama pada lapisan bawah tanah tua, tingginya aluminium menyebabkan tanah bersifat masam. Bersama-sama dengan besi atau mangan berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan tanaman (Syekhfani, 1998). Lebih lanjut dinyatakan bahwa pada tanah yang semakin masam kelarutan aluminium tinggi, sehingga yang terserap tanaman semakin besar.

2.4.3. Senyawa Kimia Yang Digunakan Selama Budidaya

Disamping faktor-faktor nutrisi/hara pada tanah, penggunaan bahan kimia selama budidaya sangat berpengaruh terhadap pembentukan steroid tanaman. Pengaruh hormon tumbuh terhadap kecepatan pembentukan steroid telah diteliti oleh Samino *et al.* (1993), hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan hormon tumbuh triakontanol 0,3 ppm dan auksin 0,2 ppm dapat menaikkan kandungan solasodina buah *Solanum khasianum* sebesar 2,75 persen dan 3,65 persen.

Disamping hormon tumbuh, zat penghambat tumbuh juga memacu pembentukan metabolit sekunder. Menurut Khalil dan Mercer (1990), penggunaan fungisida *tridemorp* dan *fenpropimorph* dapat menghambat pertumbuhan tanaman *Triticum aestivum* dan mengakibatkan akumulasi

senyawa 9β , 19- siklopropilsterol. Hal tersebut juga diperkuat oleh Haughan *et al.* (1989), yang menyatakan bahwa pemanfaatan zat penghambat tumbuh triazol dan enantiomernya pada kultur sel *Apium graveolens* dapat mengakibatkan akumulasi senyawa metil sterol, sikloeukalenol, dimetil kolesterol dan dimetil kolestandiol.

Pada sistem kultur jaringan tanaman, Crocomo *et al.* (1981) menyatakan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan metabolit sekunder. Faktor-faktor tersebut meliputi cahaya, prekursor, nutrisi, hormon pertumbuhan, pH media, elisitor, adanya penambahan ekstrak khamir, konsentrasi O_2 dan CO_2 serta etilena. Penambahan elisitor biotik (mikroba) maupun abiotik (sinar UV, pH, tekanan osmotik dan ion logam berat) dapat memacu kecepatan pembentukan metabolit sekunder. Nishi (1994) menambahkan bahwa penggunaan elisitor dapat memacu aktivitas enzim pada beberapa tanaman, antara lain ATP sitrat liase pada ubi jalar (*Ipomoea batatas*), tirosin dekarboksilase pada *Eschscholtzia californica* dan *Thalictrum rugosum*, 3-hidroksi-3-metil glutaril CoA reduktase dalam tembakau dan kentang.

Holden, Holden dan Yeoman (1989) menyatakan bahwa ion logam berat sangat efektif dalam mengelisitasi pembentukan fitoaleksin pada kultur suspensi sel *Datura stramonium*. Efek dari elisitor logam berat tersebut sangat tergantung dari konsentrasi, macam dan lama waktu perlakuan serta macam media pertumbuhan yang digunakan. Fitotoksisitas logam berat Cd, Cu, Hg dan Ni lebih besar dibandingkan dengan logam Pb dan Zn (Raskin *et al.*, 1991), lebih lanjut Zancani *et al.* (1995) menambahkan bahwa fitotoksisitas Cu lebih besar dibandingkan Cd, Ni dan Zn.

Pengaruh logam berat tembaga pada pembentukan solasodina secara *in vitro* telah dibuktikan oleh Muljati (1988), hasil penelitian menunjukkan bahwa pemupukan Cu^{2+} lewat daun meningkatkan kadar solasodina buah *Solanum khasianum*. Diperkuat oleh Nishi (1994) yang membuktikan bahwa induksi senyawa CuCl_2 pada kultur akar wortel, menyebabkan akumulasi senyawa 6-metil mellein (6 MM) dan kenaikan aktivitas enzim 6-hidroksi mellein (6 HM) sintase dan enzim 6-ortodimetil transferase (OMT). Pengaruh logam berat timbal, telah diteliti oleh Stefanov *et al.* (1992), hasil penelitian menunjukkan bahwa timbal lebih berpengaruh pada biosintesis lipid dibandingkan dengan sterol, baik pada tanaman jagung maupun kacang tanah.